

# 癌患者白血球活性酸素産生能の検討

消化器科

沢 口 健太郎  
森 下 鉄 夫  
森 俊 治  
宮 田 潤 一  
磯 部 潔  
安 藤 幸 史

## はじめに

藍藻 (Cyanobacteria) の行う光合成により地球上の酸素濃度が上昇すると酸素を利用してエネルギーを産生する生物 (好気性生物) が出現した。

グルコース 1 モルの分解により得られる Adenosine triphosphate (ATP) 分子数は嫌氣的分解 (Embden-Meyerhof pathway) では 2 モルであるが、好氣的分解 (TCA cycle) では 38 モルでありエネルギー代謝においては好気性生物の方が嫌気性生物より有利である。植物は光合成により太陽エネルギーを蓄積し酸素を産生し、好気性生物は酸素呼吸によりエネルギーを消費している (図 1)。酸素が 4 電子還元を受けて水になる過程 (図 2) で生じる分子 ( $O_2^-$ ,  $\cdot OH$ ,  $H_2O_2$  など) は不安定な分子種であり反応性が強いことより活性酸素と呼ばれる。生物が好氣的酸化により高エネルギーを得るためにはこの活性酸素による障害から組織を守る必要がある。

1969 年 MaCord と Fridorich<sup>1)</sup>により  $O_2^-$  を不均化反応 (dismutation) により消去する酵素、SOD (superoxide dismutase) (図 3) が発見された。この発見を契機に活性酸素と生体に関する知見は飛躍的に増大した。

慢性肉芽腫病 (chronic granulomatous disease, CGD) は小児の疾患で感染を繰り返す予後の悪い疾患として知られている。これは白血球の貪食能には異常がないが殺菌能が低下していることによる。SOD の発見以前より白血球の殺菌作用には  $H_2O_2$  の関与が重要であることが知られていた<sup>2)</sup> Holmes ら<sup>3)</sup>は CGD 患者の白血球は細菌を貪食後の酸素代謝の亢進と  $H_2O_2$  の産生が見られないことを発見した。Baehner ら<sup>4)</sup>は殺菌能の低下は NADPH oxidase の欠損によることを見い出した。Babior

ら<sup>5)</sup>は SOD を投与すると白血球の殺菌能が低下することより殺菌作用には  $H_2O_2$  だけでなく  $O_2^-$  も重要であることを発見した。以上の発見により現在では白血球の殺菌には活性酸素の関与が不可欠であると考えられている。

monocyte-macrophage 系細胞、多形核白血球は活性酸素により病原細菌だけでなく腫瘍細胞も障害することが知られている。癌細胞においては SOD 活性が低下している事実<sup>6,7)</sup>が知られており、癌細胞は正常細胞に比べ活性酸素に傷害されやすいと考えられている。Bleomycin などの制癌剤の作用も活性酸素を介して起こると報告されている<sup>8)</sup> Nathan ら<sup>9,10)</sup>は BCG により誘導されたマウス腹腔 macrophage、多形核白血球が phorbol myristate acetate (以下 PMA) の刺激下に細胞外で p 388 lymphoma cell などの標的細胞を障害すること、この macrophage が  $H_2O_2$  を産生すること、標的細胞が  $H_2O_2$  により障害を受けることを示した。

しかし癌患者における monocyte-macrophage 系細胞、多形核白血球の活性酸素による腫瘍細胞障害機構についての報告は少ない。そこで今回、消化器癌患者 (胃癌、原発性肝癌、大腸癌) 末梢血全血、単球、多形核白血球、癌病巣 (胃癌、大腸癌) 流入動脈、流出静脈血全血、単球、多形核白血球の活性酸素産生能を luminol 依存性化学発光現象により測定し、さらに健康者末梢血単球に癌病巣流入動脈、流出静脈血漿を加え測定し、これら血漿の単球活性酸素産生能に及ぼす影響について検討し興味ある知見を得たので報告する。

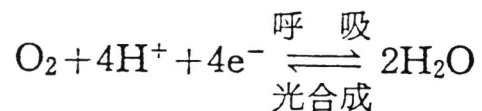
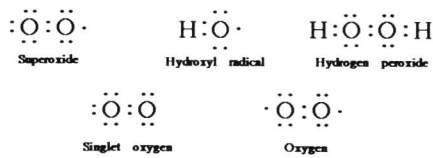
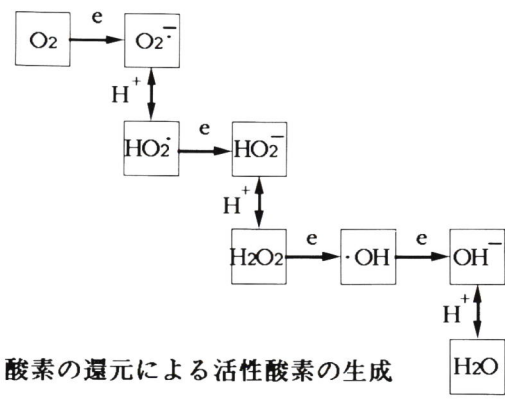


図 1



活性酸素と酸素分子の電子配置

図 2

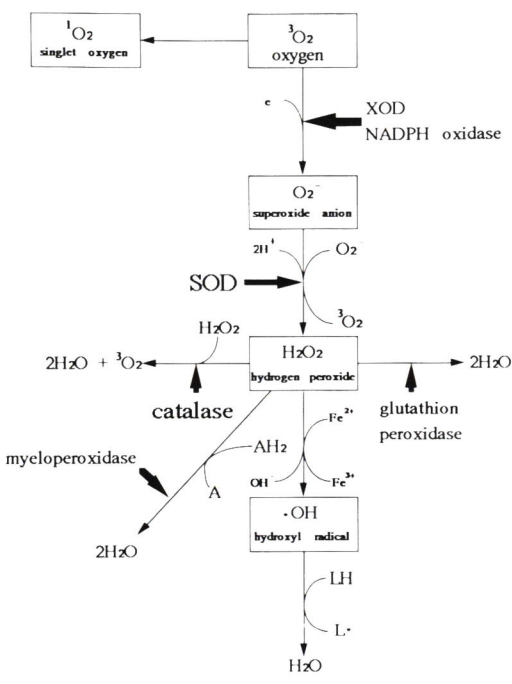


図 3

対象と方法

(1) 対象

末梢血全血、単球、多形核白血球の検討では、国立大蔵病院において入院治療した消化器癌症例 29 症例(胃癌症例 15 症例、原発性肝癌症例 9 症例、大腸癌症例 5 症例、男性 21 症例、女性 8 症例、年齢  $63.5 \pm 10.5$  (mean  $\pm$  SD) 歳)を対象とした。

癌病巣流入動脈、流出静脈血全血、単球、多形核白血球の検討では、静岡赤十字病院において手術を施行した胃癌症例 16 症例(男性 10 症例、女性 6 症例、年齢  $59.7 \pm 16.2$  歳)、大腸癌症例 14 症例(男性 10 症例、女性 4 症例、年齢  $56.1 \pm 10.4$  歳)を対象とした。これらの症例は術前に化学療法、放射線療法などは施行されておらず、感染症などの明らかな合併症も認められなかった。

(2) 方法

i) 採血

末梢血全血、単球、多形核白血球の検討では、橈骨静脈よりヘパリン採血(10 U/ml)した。

癌病巣流入動脈、流出静脈血全血、単球、多形核白血球の検討では、全身麻酔下の開腹手術において、癌病巣に流入する動脈と癌病巣より流出する静脈よりヘパリン採血した。採血部位については以下の部位より行った。病巣が胃体部小彎に存在する場合は左胃動静脈、胃前庭部と胃体部大彎の場合は右胃大網動静脈、盲腸の場合は回結腸動静脈、上行結腸の場合は右結腸動静脈、横行結腸の場合は中結腸動静脈、下行結腸の場合は左結腸動静脈、S 状結腸の場合は S 状結腸動脈と下腸間膜静脈、直腸の場合は上直腸動脈と下腸間膜静脈とした。また一部の症例は、末梢血を手術前に大腿動静脈または橈骨動静脈よりヘパリン採血した。

ii) 白血球の分離

dextran, Conray-Ficoll 法により単核細胞を含む分画と多形核細胞を含む分画に分離した。単核細胞を含む分画は PBS にて 2 回洗浄後、単核細胞が  $1 \times 10^6$  個/ml となるよう培養液(RPMI 1640)に浮遊した。多形核細胞を含む分画は 0.09% NaCl と 1.8% NaCl を用い、赤血球を溶血させた後、PBS にて 2 回洗浄後多形核細胞が  $1 \times 10^6$  個/ml となるよう培養液(RPMI 1640)に浮遊した。単核細胞は、その塗抹標本を作成し、3-3'diaminobenzidine を用いる Graham-Karnovsky 法にて peroxidase 染色し、単核細胞中の単球の比率を計測した。

## iii) 活性酸素産生能の測定

活性酸素産生能は Berthold Lab. (西独) の luminescence analyzer, Biolumat LB 9500 を用い、luminol 依存性化学発光現象により測定した。スピッツに血液 200  $\mu$ l と上記培養液 800  $\mu$ l を加え、37°C、5 分間 incubation 後、luminol 80  $\mu$ g/ml を加え反応により生じた photon を 4 分間 background として photon counter にて測定した。刺激剤として opsonized zymosan (以下 zymosan) 1.25 mg/ml または PMA 0.2  $\mu$ g/ml を加え測定を続け、その peak 値を全血の chemiluminescence peak 値 (以下 ChL 値) とした。単核細胞の浮遊液をスピッツに 1 ml 採り、37°C、5 分間 incubation 後、luminol 80  $\mu$ g/ml、zymosan 1.25 mg/ml または PMA 0.2  $\mu$ g/ml を加え測定し、その peak 値を単核細胞中の単球の比率により単球  $1 \times 10^4$  個あたりに換算し単球の ChL 値とした。多形核細胞の浮遊液をスピッツに 1 ml 採り、37°C、5 分間 incubation 後、luminol 80  $\mu$ g/ml、zymosan 0.5 mg/ml または PMA 0.1  $\mu$ g/ml を加え測定し、その peak 値を多形核白血球  $1 \times 10^4$  個あたりに換算し多形核白血球の ChL 値とした。

## iv) 癌患者血漿添加

手術時、癌病巣に流入する動脈と流出する静脈よりヘパリン採血し 3,000 RPM、5 分間遠沈し血漿を得た。同様に癌患者末梢動静脈よりヘパリン採血し血漿を得た。一方、健常人末梢血を採血し上記と同様に単核細胞を分離し培養液に  $1 \times 10^6$  個/ml となるよう調整した。この細胞浮遊液 0.5 ml に上記患者血漿 100  $\mu$ l を加え、37°C、5 分間 incubation 後 luminol 80  $\mu$ g/ml、PMA 0.2  $\mu$ g/ml を加え反応により生じた photon を上記と同様に測定し ChL 値を算出した。

## 成 績

## (1) 末梢血全血の活性酸素産生能

末梢血全血の ChL 値は zymosan 刺激では健常人  $24.2 \pm 4.7$  count/ $4 \times 10^4$ sec cell (mean  $\pm$  SEM) に対し、担癌症例は  $57.6 \pm 13.6$  count/ $4 \times 10^4$ sec cell、胃癌は  $42.6 \pm 6.9$  count/ $4 \times 10^4$ sec cell と有意に高値を示した ( $P < 0.05$ )。PMA 刺激でも健常人  $45.3 \pm 4.3$  count/ $4 \times 10^4$ sec cell に対し、担癌症例は  $124.3 \pm 20.7$  count/ $4 \times 10^4$ sec cell、胃癌は  $124.8 \pm 33.3$  count/ $4 \times 10^4$ sec cell、原発性肝癌は  $131.9 \pm 35.2$  count/ $4 \times 10^4$ sec cell と有意に高値を示した (担癌症例  $P < 0.01$ 、胃癌、原発性肝癌  $P <$

0.05) (図 4)

## (2) 末梢血単球の活性酸素産生能

末梢血単球の ChL 値は zymosan 刺激では有意な変動を認めなかったが、PMA 刺激では健常人  $46.5 \pm 3.9$  count/ $4 \times 10^2$ sec cell に対し、担癌症例は  $75.5 \pm 8.5$  count/ $4 \times 10^2$ sec cell、胃癌は  $80.5 \pm 9.6$  count/ $4 \times 10^2$ sec cell と有意に高値を示した ( $P < 0.05$ ) (図 5)。

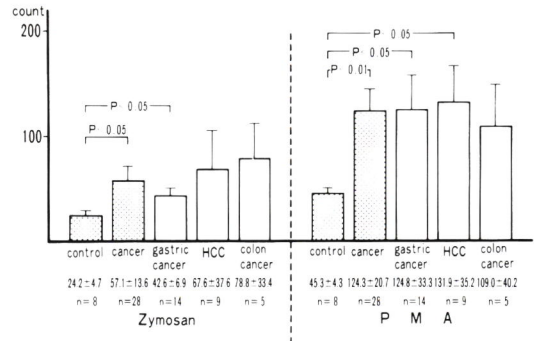


図 4 Peak chemiluminescence activities generated in peripheral blood of patients with cancer and normal subjects on stimulation with opsonized zymosan and PMA.

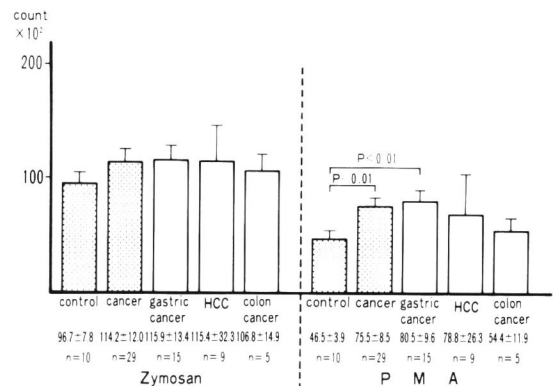


図 5 Peak chemiluminescence activities generated by monocytes of patients with cancer and normal subjects on stimulation with opsonized zymosan and PMA.

## (3) 末梢血多形核白血球の活性酸素産生能

末梢血多形核白血球の ChL 値は zymosan 刺激では健常人  $31.7 \pm 4.5$  count/ $4 \times 10^2$ sec cell に対し、担癌症例は  $21.2 \pm 2.5$  count/ $4 \times 10^2$ sec cell、原発性肝癌は  $16.1 \pm 5.1$  count/ $4 \times 10^2$ sec cell と有意に



低値を示した ( $P < 0.05$ )。しかし PMA 刺激では逆に、健常人  $22.1 \pm 3.9$  count/  $4 \times 10^2$  sec cell に対し、担癌症例は  $44.1 \pm 11.9$  count/  $4 \times 10^2$  sec cell と有意に高値を示し ( $P < 0.05$ ) (図 6)。

#### (4) 末梢血全血の活性酸素産生能と clinical stage

図 7 で closed circle は末期癌で、測定後近日中に死亡した症例である。open circle は測定時全身状態が比較的良好に保たれていた症例である。zymosan 刺激では明らかな差を認めなかったが、PMA 刺激では ChL 値は死亡例で有意に上昇していた ( $P < 0.01$ )。

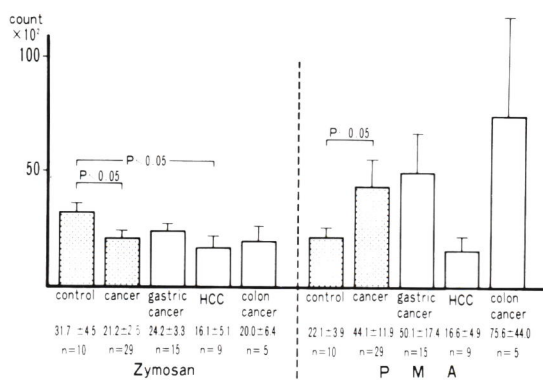


図 6 Peak chemiluminescence activities generated by polymorphonuclear cells of patients with cancer and normal subjects on stimulation with opsonized zymosan and PMA.

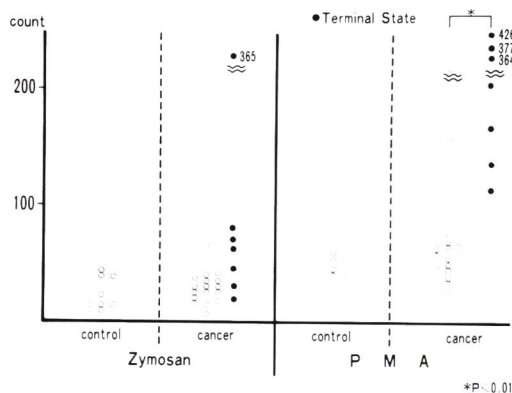


図 7 The relationship between clinical states and peak chemiluminescence activities generated in peripheral blood of patients with cancer and normal subjects on stimulation with opsonized zymosan and PMA.

#### (5) 癌病巣流入動脈血全血、流出静脈血全血の活性酸素産生能

全血の ChL 値は胃癌では動脈血  $432 \pm 187$  count/  $4 \times 10^4$  sec cell に対し静脈血は  $246 \pm 64$  count/  $4 \times 10^4$  sec cell と、大腸癌では動脈血  $249 \pm 53$  count/  $4 \times 10^4$  sec cell に対し静脈血は  $236 \pm 40$  count/  $4 \times 10^4$  sec cell と動静脈間に有意な差を認めなかった (図 8)。

#### (6) 癌病巣流入動脈血単球、流出静脈血単球の活性酸素産生能

単球の ChL 値は胃癌では流入動脈血  $32 \pm 6$  count/  $4 \times 10^2$  sec cell に対し、流出静脈血は  $23 \pm 4$  count/  $4 \times 10^2$  sec cell と、大腸癌では流入動脈血  $34 \pm 5$  count/  $4 \times 10^2$  sec cell に対し、流出静脈血は  $20 \pm 3$  count/  $4 \times 10^2$  sec cell と動脈血が有意に高値を呈した ( $P < 0.01$ ) (図 9)。

#### (7) 癌病巣流入動脈血多形核白血球、流出静脈血多形核白血球の活性酸素産生能

多形核白血球の ChL 値は胃癌では流入動脈血  $84 \pm 19$  count/  $4 \times 10^2$  sec cell に対し、流出静脈血は  $81 \pm 21$  count/  $4 \times 10^2$  sec cell と、大腸癌では流入動脈血  $99 \pm 10$  count/  $4 \times 10^2$  sec cell に対し、流出静脈血は  $103 \pm 16$  count/  $4 \times 10^2$  sec cell と動静脈間に有意な差を認めなかった (図 10)。

#### (8) 癌患者末梢動脈血単球、多形核白血球、末梢静脈血単球、多形核白血球の活性酸素産生能

胃癌大腸癌患者末梢血単球の ChL 値は動脈血  $25 \pm 3$  count/  $4 \times 10^2$  sec cell に対し、静脈血は  $28 \pm 4$  count/  $4 \times 10^2$  sec cell と、胃癌大腸癌末梢血多形核白血球の ChL 値は、動脈血  $154 \pm 29$  count/  $4 \times 10^2$  sec cell に対し、静脈血は  $162 \pm 26$  count/  $4 \times 10^2$  sec cell と動静脈間に有意な差を認めなかった (図 11)。

#### (9) 癌病巣流入動脈、流出静脈血血漿の健常者単球活性酸素産生能に及ぼす影響

健常者単球の ChL 値は流入動脈血血漿添加  $141 \pm 24$  count/  $4 \times 10^2$  sec cell に対し、流出静脈血血漿添加では  $130 \pm 21$  count/  $4 \times 10^2$  sec cell と動脈血血漿添加により静脈血血漿添加に比較し有意に高値を呈した ( $P < 0.05$ ) (図 12)。

#### (10) 癌患者末梢血血漿の健常者単球活性酸素産生能に及ぼす影響

健常者単球の ChL 値は動脈血血漿添加  $132 \pm 36$  count/  $4 \times 10^2$  sec cell に対し、静脈血血漿添加では  $140 \pm 32$  count/  $4 \times 10^2$  sec cell と動静脈血血漿間に

有意な差を認めなかった (図 13)。

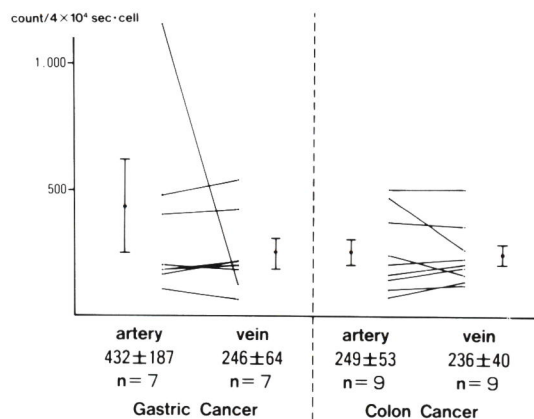


図 8 Peak chemiluminescence activities generated in whole blood from the vessels which are near cancer lesion on stimulation with PMA. The bars indicate mean ± SEM.

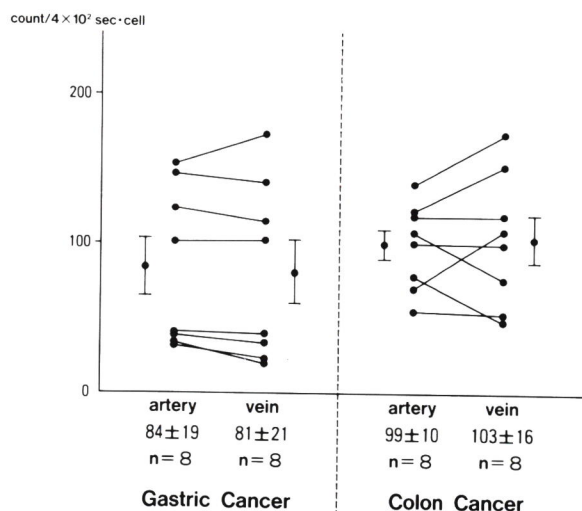


図 10 Peak chemiluminescence activities generated by polymorphonuclear cells from the vessels which are near cancer lesion on stimulation with PMA. The bars indicate mean ± SEM.

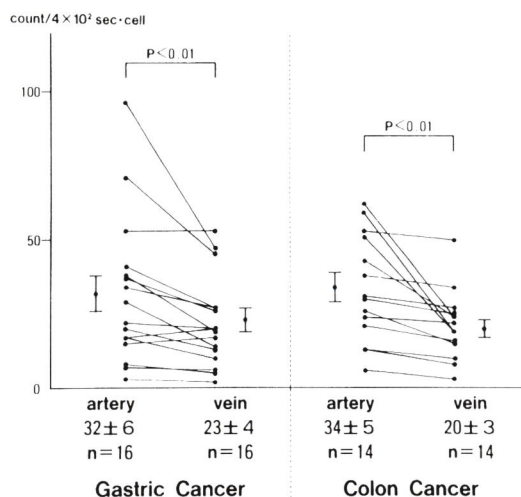


図 9 Peak chemiluminescence activities generated by monocytes from the vessels which are near cancer lesion on stimulation with PMA. The bars indicate mean ± SEM.

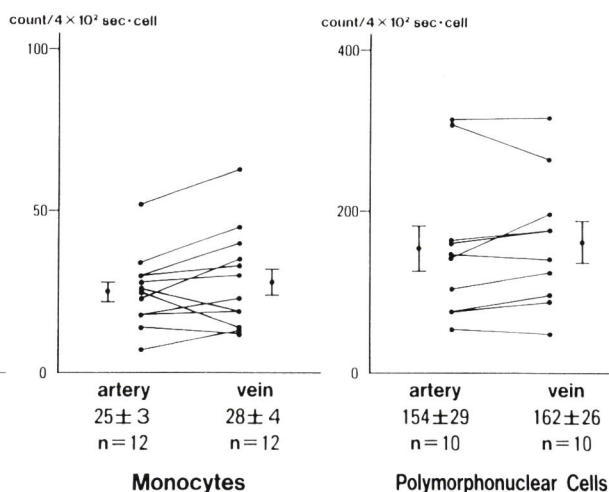


図 11 Peak chemiluminescence activities generated by monocytes and polymorphonuclear cells from the peripheral vessels of patients with cancer on stimulation with PMA. The bars indicate mean ± SEM.

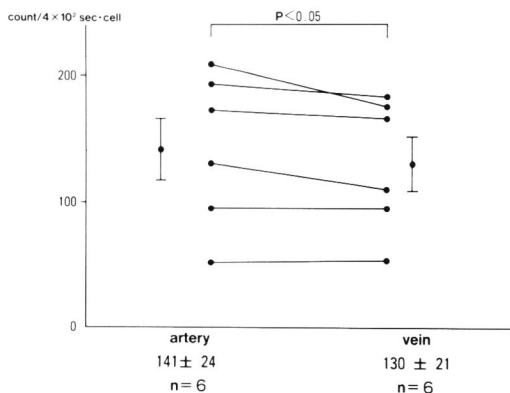


図12 Peak chemiluminescence activities generated by monocytes of normal subjects which are incubated with the plasma from the vessels which are near cancer lesion on stimulation with PMA. The bars indicate mean  $\pm$  SEM.

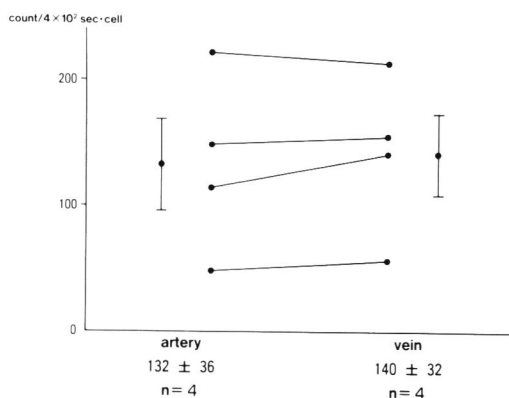


図13 Peak chemiluminescence activities generated by monocytes of normal subjects which are incubated with the plasma from the peripheral vessels of patients with cancer on stimulation with PMA. The bars indicate mean  $\pm$  SEM.

#### (11) 癌患者単球活性酸素産生能と癌患者血漿添加効果の相関

動脈血（癌病巣流入動脈血と癌患者末梢動脈血）単球 ChL 値と静脈血（癌病巣流出静脈血と癌患者末梢静脈血）単球 ChL 値の比と動脈血（癌病巣流入動脈血と癌患者末梢動脈血）血漿添加単球 ChL 値と静

脈血（癌病巣流出静脈血と癌患者末梢静脈血）血漿添加単球 ChL 値の比との相関について検討した。相関係数  $r=0.697$  となり有意の相関を認め ( $P < 0.05$ )、X 軸に単球 ChL 値比、Y 軸に血漿添加単球 ChL 値比をとるとき回帰直線は  $y=0.257x+0.725$  となった（図 14）

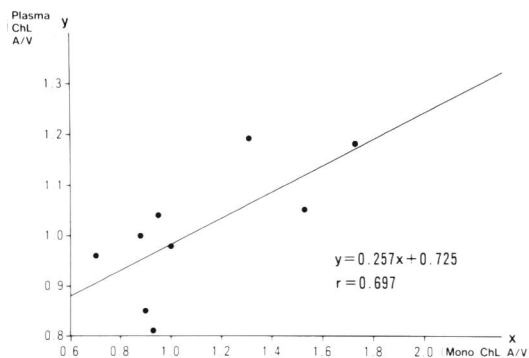


図14 The relationship between peak chemiluminescence activities' ratio (arteris/veins) generated by monocytes of patients with cancer and peak chemiluminescence activities' ratio (arteris/veins) generated by monocytes of normal subjects which are incubated with the plasma of patients with cancer.

#### 考 按

Kitahora ら<sup>11)</sup>は Crohn 病患者の末梢血単球を PMA、opsonized zymosan により刺激し luminol 依存性化学発光現象により単球の活性酸素産生能を測定し、健常者に比し有意に亢進していることを示し、貧食細胞の産生する活性酸素が病変部において組織障害に関与していることを示唆した。また Suematsu ら<sup>12)</sup>は luminol 依存性化学発光現象において多形核白血球より遊離される photon の生成機構について解析し、 $\text{Ca}^{2+}$ -ionophore、PMA により多形核白血球が刺激を受けるとアズール顆粒の脱顆粒を生じ、その結果 myeloperoxidase- $\text{H}_2\text{O}_2$ -chloride 系を介し細胞外において luminol を酸化し、photon を遊離することを報告した。筆者らは本測定系、すなわち貧食細胞の luminol 依存性化学発光現象による測定では myeloperoxidase- $\text{H}_2\text{O}_2$ -chloride 系に



よる反応が測定されていると考えている。

末梢血全血の活性酸素産生能は zymosan 刺激では担癌患者、胃癌患者は健康人に比較し有意に高値を示した。PMA 刺激でも担癌患者、胃癌患者、原発性肝癌患者は健康人に比較し有意に高値を示した。末梢血単球の活性酸素産生能は PMA 刺激では担癌患者、胃癌患者は健康人に比較し有意に高値を示した。末梢血多形核白血球の活性酸素産生能は zymosan 刺激では担癌患者、原発性肝癌患者は健康人に比較し有意に低値を示したが、PMA 刺激では担癌患者は健康人に比較し有意に高値を示した。このことより担癌患者の単球の産生する活性酸素が腫瘍組織における単球の抗腫瘍活性と何らかの関係を有する可能性も考えられた。多形核白血球については zymosan 刺激、PMA 刺激により担癌患者の活性酸素産生能に差があり担癌生体における多形核白血球の役割については今後の検討が必要と思われた。

末梢血全血の活性酸素産生能は PMA 刺激では末期癌で予後の悪い症例が全身状態が比較的良好に保たれていた症例より有意に高値を示したことより貧食細胞の産生する活性酸素が癌の悪液質と関係のあ

る可能性が示唆された。

単球の活性酸素産生能は癌病巣に流入する動脈血中で流出する静脈血より有意に亢進していた。しかし末梢の動静脈間ではこのような有意な差は認められなかった。多形核白血球の活性酸素産生能は癌病巣流入動脈、流出静脈間、末梢動静脈間において有意な変動を認めなかった。このことより担癌患者の単球は癌病巣を通過することにより何らかの機能的な変化を生じる可能性が考えられる。このような機能的変化を生じる機序として二つの可能性が考えられる。一つは、これらの貧食細胞の一部が癌病巣に捕捉され、活性酸素を介した抗腫瘍活性などの何らかの機能を果たすことにより結果的に機能の低下した貧食細胞が静脈血中に流出するという可能性である。もう一つは、癌細胞または癌細胞を取り囲む環境より産生された抑制性物質の作用により貧食細胞の機能が低下するという可能性である。

貧食細胞の活性酸素による抗腫瘍活性については前述の Nathan ら<sup>9,10)</sup>の報告以外にも報告は多い。Clark ら<sup>13)</sup>は、ヒト多形核白血球が、Concanavalin A (Con A) の誘導によりマウス lymphoma cell、LSTRA を halide (OCI<sup>-</sup>, OI<sup>-</sup>) の存在下で障害すること、myeloperoxidase (MPO) 欠損多形核白血球、CGD (慢性肉芽腫症患者) の多形核白血球が MPO

または glucose oxidase の添加で同様の細胞障害性を示すことを証明した。Mavrier ら<sup>14)</sup>は、12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) の刺激下でヒト単球がヒト myeloid leukemia cell、K 562、ヒト histiocytic lymphoma cell、U 927 を障害することを報告した。Flescher ら<sup>15)</sup>は、paraffin oil に誘導されたマウス腹腔 macrophage が TPA の刺激下でマウス lymphoma cell、EL 4 などの標的細胞を障害することを明らかにした。以上の報告はいずれもヒトや動物の貧食細胞が in vitro において PMA などの刺激下に腫瘍細胞を障害することを示している。

健康者単球活性酸素産生能は癌病巣流入動脈血血漿添加により流出静脈血血漿添加に比較し有意に高値を呈したが、末梢動脈血血漿添加と末梢静脈血血漿添加では有意の変動を認めなかった。このことより癌病巣流入動脈血血漿、流出静脈血血漿には健康者単球活性酸素産生能を抑制する物質または活性化

する物質が存在することが示唆された。

動脈血 (癌病巣流入動脈血と癌患者末梢動脈血) 単球活性酸素産生能と静脈血 (癌病巣流出静脈血と癌患者末梢静脈血) 単球活性酸素産生能の比と動脈血 (癌病巣流入動脈血と癌患者末梢動脈血) 血漿添加単球活性酸素産生能と静脈血 (癌病巣流出静脈血と癌患者末梢静脈血) 血漿添加単球活性酸素産生能の比が有意の相関を示した。このことより癌患者においては単球活性酸素産生能は血漿中の抑制性物質または活性化物質により影響を受け、これらの物質の影響が癌病巣流入動脈血単球、流出静脈血単球の活性酸素産生能に反映されている可能性が示唆された。

このような単球活性酸素産生能に影響を及ぼすと考えられる物質は血漿中に多数存在すると考えられている。

Bettetini ら<sup>16)</sup>は、ヒト単球を HT 29 ヒト大腸癌細胞または培養上清に暴露することによりヒト単球の産生する活性酸素 ( $O_2^-$ ) が増大することを示した。一方、Tsunawaki ら<sup>17)</sup>は、腫瘍細胞培養上清中に存在し、respiratory burst や貧食細菌に対する殺菌能を低下させる物質を macrophage deactivation factor (MDF) と呼んだ。Nakagawara ら<sup>18)</sup>は、Con-A、BCG などにより誘導された lymphokine による刺激を受けるとヒト単球の産生する  $H_2O_2$  が増大することを報告した。Michael ら<sup>19)</sup>は、ヒト単球を細菌の産生する muramyl dipeptide (MDP)、

lipopolysaccharide (LPS) に暴露することにより単球の産生する活性酸素 ( $O_2^-$ ) が増大することを示した。Phillips<sup>20)</sup>は、マウスの骨髄由来 macrophage は PMA 刺激による活性酸素 ( $O_2^-$ ) 産生に際して、GM-CSF、TNE- $\alpha$ 、INF- $\gamma$  などの cytokine の暴露を必要とすることを見出した。Nathan ら<sup>21)</sup>は、活性化 macrophage による抗体依存性腫瘍細胞障害に活性酸素が関与することを示唆した。以上により単球の活性酸素産生能に影響を及ぼす可能性のある物質には、癌細胞の膜表面上の物質、癌細胞より産生され周囲に放出される物質、免疫担当細胞より産生される物質 (lymphokines、cytokines)、抗体等が考えられる。筆者らは単球の活性酸素による抗腫瘍活性について、筆者らの上記成績と上記報告を総合して図 15 のような関係を想定している。

さらにこれらの関係を明らかにするためには、癌組織中の macrophage を分離し、その活性酸素産生能を測定することが必要であると考えている。

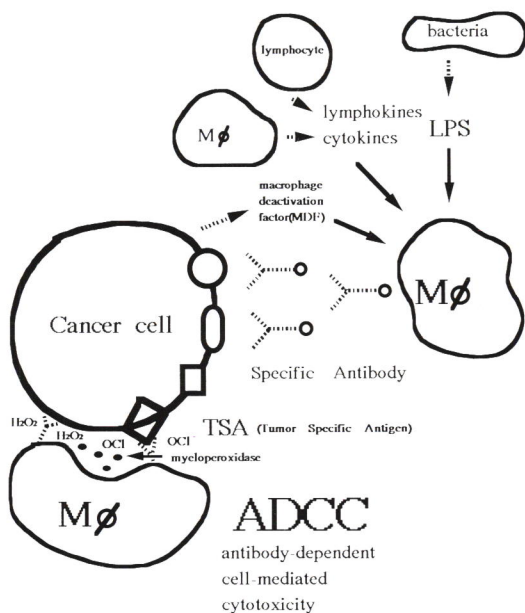


図15

## 文 献

- 1) J. McCord, I. Fridovich: Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). J. Biol. Chem. 244: 6049-6055, 1969.
- 2) B. Paul, A. Sbarra: The role of the phagocyte in host-parasite interactions, XIII the direct quantitative estimation of  $H_2O_2$  in phagocytizing cells. J. Clin. Invest. 49: 865-870, 1970.
- 3) B. Holmes, A. Page, R. Good: Studies of the metabolic activity of leukocytes from patients with a genetic abnormality of phagocytic function. J. Clin. Invest. 46: 1422-1432, 1967.
- 4) R. Baehner, B. Nathan, M. Karnovsky: Correction of metabolic deficiencies in the leukocytes of patients with chronic granulomatous disease. J. Clin. Invest. 49: 865-870, 1970.
- 5) B. Babior, R. Kipnes, J. Curnutte: Biological defense Mechanisms. The production by leukocytes of superoxide, a potential bactericidal agent. J. Clin. Invest. 52: 741-744, 1973.
- 6) N. Nakayama, C. Deamer: Superoxide dismutase activity in WI-38 cell cultures. Effects of age, trypsinization and SV-40 transformation. Physiol. Chem. Phys. 6: 95-106, 1974.
- 7) O. Dionisi, T. Gleotti, T. Terranova, et al: Superoxide radicals and hydrogen peroxide formation in mitochondria from normal and neoplastic tissues. Biochem. Biophys. Acta 403, 292-300, 1975.
- 8) R. Ishida, T. Takahashi: Increased DNA chain breakage by combined action of bleomycin and superoxide radical. Biochem. Biophys. Res. Commun. 66: 1432-1438, 1975.
- 9) C. Nathan, L. Brukner, S. Silverstein, et al: Extracellular cytotoxicity by activated macrophages and granulocytes. I. Pharmacologic triggering of effector cells and the release of hydrogen peroxide. J. Exp. Med. 149: 84-99, 1979.
- 10) C. Nathan, S. Silverstein, L. Brukner, et al: Extracellular cytotoxicity by activated macrophages and granulocytes. II. Hydrogen peroxide as a mediator of cytotoxicity. J. Exp. Med. 149: 100-113, 1979.
- 11) T. Kitahara, K. Suzuki, H. Asakura, et al: Active oxygen species generated by monocytes and polymorphonuclear cells in Crohn's disease. Digestive Disease and Science 33: 951



- 955,1988.
- 12) N. Suematsu, C. Oshio, S. Miura, et al : Luminol-dependent photoemission from single neutrophil stimulated by phorbol ester and calcium ionophore-role of degranulation and myeloperoxidase. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 155 : 106-111,1988.
  - 13) R. Clark, S. Klebanoff : Role of the myeloperoxidase- $H_2O_2$ -halide system in concanavalin A-induced tumor cell killing by human neutrophils. *J. Immunol.* 122 : 2605-2610, 1979.
  - 14) P. Mavrier, T. Edgington : Human monocyte-mediated tumor cytotoxicity. I. Demonstration of an oxygen-dependent myeloperoxidase-independent mechanism. *J. Immunol.* 132 : 1980-1986,1984.
  - 15) E. Flescher, P. Gonen, Y. Keisri : Oxidative burst-dependent tumoricidal and tumorostatic activities of paraffin oil-elicited mouse macrophages. *JNCL* 72 : 1341-1347,1984.
  - 16) D. Betteini, G. Garrouste, M. Remacle, et al : Enhancement of Production of superoxid anion by human monocytes exposed to products of HT 29 human colonic adenocarcinome cell line. *Int. J. Cancer* : 39, 203-210,1987.
  - 17) S. Tsunawaki, C. Nathan : Macrophage deactivation Altered Kinetic Properties of Superoxide-producing Enzyme after Exposure to Tumor Cell-conditioned Medium. *J. Exp. Med.* 164 : 1319-1331, 1986.
  - 18) A. Nakagawara, N. Desantis, N. Nogueira, et al : Lymphokines enhance the capacity of human monocytes to secrete reactive oxygen intermediate. *J. Clin. Invest.* 70 : 1042-1048, 1982.
  - 19) J. Michael, M. Pabst, C. Hedegaard, et al : Cultured human monocytes require exposure to bacterial products to maintain an optimal oxygen radical response. *J. Immunol.* 128 : 123-128, 1982.
  - 20) W. Phillips, J. Hamilton : Phorbol ester-stimulated superoxide production by murine bone marrow-derived macrophages requires preexposure to cytokines. *J. Immunol.* 142 : 2445-2449,1989.
  - 21) C. Nathan, Z. Cohn : Role of oxygen-dependent mechanisms in antibody-induced lysis of tumor cells by activated macrophages. *J. Exp. Med.* 152,198-208,1980.